Breve guía a la cromatografía circular de suelos

Introducción

El suelo es una sustancia de extrema complejidad: minerales, agua, aire, materia orgánica y una multitud de seres vivientes se reúnen para crear un sistemas auto-regulado dinámico. Para el análisis de sus propiedades, se pueden utilizar diferentes enfoques. Las características físicas tales como agregación y porosidad, nos pueden informar acerca de la capacidad de retención hídrica o posibles problemas de compactación; la composición química nos informa acerca de la falta y/o abundancia de ciertos minerales y la diversidad biológica nos permite hacer ciertas asunciones respecto al funcionamiento general de la cadena trófica del suelo y, por lo tanto, de su capacidad para dar soporte al crecimiento vegetal.

La cromatografía circular de suelos en papel es un método de análisis desarrollado a fines del siglo 20 que todavía es utilizado por agricultores "biodinámicos" en todo el mundo. A pesar de que su validez científica está en disputa, el procedimiento sigue un protocolo estricto y produce resultados altamente reproducibles. De manera similar a otros enfoque cualitativos, la experiencia personal es la clave para obtener información valiosa y, con algo de práctica, este método podría permitir una comprensión más profunda que la de una análisis físico-químico clásico. Debido a su simplicidad y su valor estético, la cromatografía circular de suelo es también una herramienta adecuada para la educación y la reconexión de campesinxs, jardinerxs y público en general con el suelo del que su vida depende.

Cómo funciona el método

El líquido viaja a través del papel de filtro empujado por fuerzas capilares. Los componentes individuales presentes en la muestra migran más despacio o más lento dependiendo de su tamaño y sus propiedades físico/químicas. Este particular método de separación se denomina cromatografía.

En la cromatografía de suelo, la extracción se realiza por medio de hidroxido de sodio, una susbancia ampliamente usada para extraer compuestos orgánicos de muestras de suelo y compost. Reacciona activamente descomponiendo sustancias rígidas y sólidas y moléculas grandes y complejas, haciéndolas más pequeñas y móviles. Antes de aplicar los extractos de suelo, los papeles de filtro son embebidos con una solución diluida de nitrato de plata, conocido por su estrema sensibilidad a la luz. Los distintos componentes del suelo son separados a medida que avanzan por el papel de filtro creando patrones particulares y desarrollando colores característicos al reaccionar con el nitrato de plata.

Sustancia similares comparten patrones característicos similares. Esto significa que las muestras de suelo de la agricultura industrial convencional son similares entre si pero diferentes de las provenientes de suelos ricos en materia orgánica y composts. Durante las últimas décadas, se han realizado varios intentos para cuantificar y objetivar los imagenes obtenidas con la cromatografía de suelo con interesantes resultados (ver Capitulo X y lecturas complementarias). Sin embargo, consideramos que la mayor fortaleza de este método reside precisamente en su naturaleza subjetiva.

Herramientas

- balanza (al menos 0.1 g de precisión) → no se requiere alta precisión si se tiene el $AgNO_3$ en solución.
- vaso graduado (~50-100ml)
- frascos de vidrio (min. 100ml)
- placas de petri, tapas de frasco, o algo similar
- pipeta (~2-10ml)
- guantes de latex
- tijeras

Materiales

(para 20 cromatogramas)

- Nitrato de plata → 0,2 g
- hidróxido de sodio → 10 g
- agua destilada → ~ 1.5 l
- 22 papeles de filtro (15 cm de diámetro) → de ellos serán usados para los pabilos (ver paso 3)

Planifica con anticipación:
El $AgNO_3$ y los papeles de filtro pueden tener entre 1-2 semanas de demora en la entrega. El resto de los materiales se encuentra normalmente en cualquier droguería.
Papeles de filtro: hemos tenido buenas experiencias con tasas de retención de 5-8 um (recomendamos Whatmann N°4)

Flujo de trabajo

Si estás haciendo cromatografías por primera vez, te recomendamos que empieces con pocas muestras para familiarizarte con el proceso y en adaptar el flujo de trabajo a tus condiciones locales. Prueba suelos bien diferentes, para tener un panorama de la variedad de formas/colores y también compara la misma muestra en dos diluciones diferentes. Cuando estes listo para una aproximación más sistemática, comienza por formular una pregunta de investigación precisa: ej. ha alguna diferencie entre la parte del jardín cubierta con mulch y la parte expuesta?

Recomendaciones:

- haz un cronograma, cuando tomar muestra, preparar los filtros, etc
- encuentra un lugar donde puedas improvisar un cuarto oscuro (ver paso 3)
- toma al menos 2 muestras de cada sitio que quieras comparar
- haz un cromatograma "blanco" con la solución de extracción (1% NaOH)
- se muy preciso en la preparación, trata todas las muestras de igual manera

Paso I
Preparando las soluciones

minimice la exposición a la luz cuando manipule AgNO3!

Solución al 0.5% de AgNO3
ej. 0.5g de AgNO3 en 100ml de agua destilada

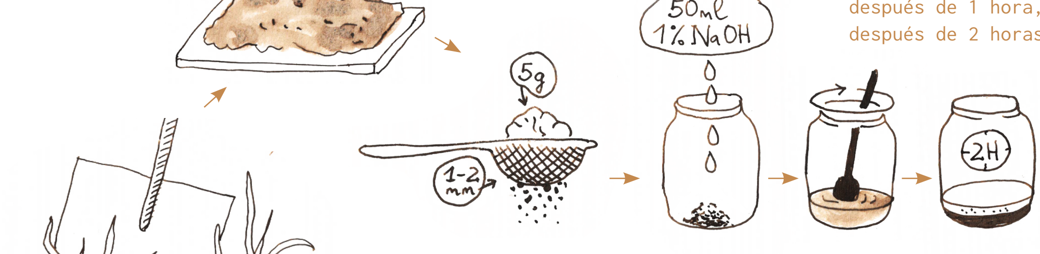
necesitarás 2ml de solución por cromatograma, por lo tanto será suficiente para aprox 50 - puedes almacenar la solución en una botella opaca (puedes usar papel de aluminio)

Solución de 1% de NaOH
ej. 10g de NaOH en 1l de agua destilada

necesitarás 50ml por cromatograma. ATENCION: siempre agrega el agua antes del NaOH!

Paso 2
Obteniendo los extractos de suelo

- **recolecta un puñado de suelo (sin piedras, raíces, restos de panta, etc)**
- **si quieres comparar sitios, toma al menos 2 muestras de cada lugar**
- **esparce el suelo en una mesa o papel para que seque (mejor si es blanca para apreciar el color)** → no directamente al sol
- **tamiza 5 g de suelo (agujeros ~2mm)**
- **mezcla el suelo con 50ml de solución de NaOH al 1%** → algunos protocolos usan 10g, pero 5g funciona mejor para nosotros
- **agita suavemente o mezcla varias veces durante las siguientes 2-3 horas ej al principio, a los15 min, transcurrida 1 hora, transcurridas de 2 horas** → ejemplo, al principio, después de 15 minutos, después de 1 hora, después de 2 horas
- **deja que la muestra sedimente por 2 horas antes de la cromatografía**



Si la muestra es rica en materia orgánica tardará más tiempo en sedimentar

Idealmente la sedimentación sucede en tu cuarto oscura, así no tendrás que moverla luego para hacer la cromatografía

Paso 3

Embebiendo el papel de filtro con $AgNO_3$

✱ Este paso debe ser realizado con guantes y en relativa oscuridad ◐

✱ AgNO3 es una poderosa tintura y puede causar la irritación de la piel

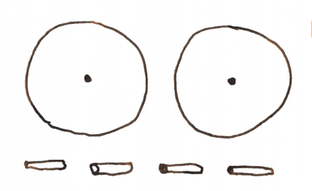
✱ Mantiene los filtros de papel limpios

Improvisa un cuarto oscuro

cierra las cortinas o cuelga una manta, mientras más oscuro mejor pero no entres en pánico. También puedes esperar el atardecer o utilizar una luz roja o amarilla de baja intensidad

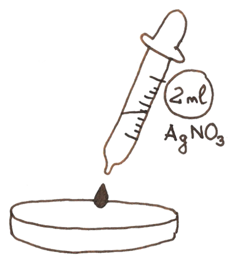
haz un hoyo en el centro de cada papel de filtro

para encontrar el medio, puedes doblar el papel, marcar el centro con una pequeña linea y luego repetir la operación doblando el papel en la otra dirección. Luego, puedes apilar los filtros y hacer una perforación de unos 2mm en el centro con ayuda de un sacabocado.



haz el doble de pabilos que de muestras (los necesitarás también en el paso 4)

corte un papel de filtro en cuadrados de ~2x2 cm y enróllelos en cilindros



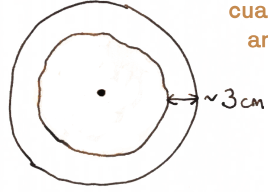
pipetea 2ml de AgNO3 en la placa de petri/tapa de frasco

Inserta el pabilo en el hoyo del filtro de papel y ponlo sobre la caja de petri

asegurate que el pabilo quede perpendicular y toque el líquido - comenzará a embeber el papel de inmediato

repite este proceso para todos los papeles de filtro

puedes hacer esta tarea en paralelo - dependiendo de la cantidad esta tarea implicará entre 20-30 minutos



cuando la solución alcance 3cm antes del borde, retira el pabilo y deja que los filtros sequen

debes colocarlos en un lugar oscuro (ej una caja) con papel tissue de ambos lados

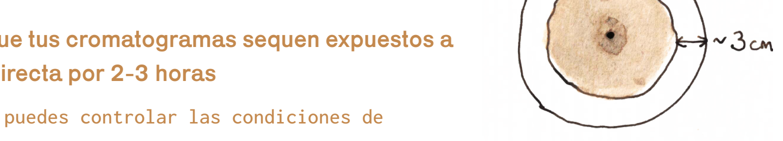
Paso 4

Embebiendo los papels con los extractos de suelo

✱ este paso debe ser realizado con guantes y en relativa oscuridad

- escribe la identificación de cada muestra en el borde del papel (ej número)
- lava las cajas de petri y utiliza pabilos frescos
- pipetea 3ml del líquido sobrenadante (por encima del suelo sedimentado) sin mezclar el líquido
- repite el proceso del paso 3 para embeber los papeles ahora con la muestra
- detén la cromatografía cuando el frente húmedo cuando llegue a 3cm del borde

  dependiendo del papel esto puede tardar hasta 1 hora



- deja que tus cromatogramas sequen expuestos a luz indirecta por 2-3 horas

  puedes controlar las condiciones de exposición con luz artificial

Solución de problemas

- si la solución avanza menos de la mitad de la distancia hasta el borde, puedes hacer una mayor dilución de esa muestra en tu siguiente experimento(5g en 100ml)
- si los cromas son demasiado pálidos y no generan patrones claros puedes utiliar una mayor cantidad de suelo (ej 10g)

7

Interpretación y evaluación

Una imagen vale mas que mil números

Los cromatogramas son únicos, bellas imagenes que revelan un poco la complejidad y la integridad de los suelos que los originan. Este método nos gusta porque es lo suficientemente simple como para poder hacerlo en casa o en un taller y nos permite capturar algunas de las propiedades del suelo en una hoja de papel que podemos admirar, compartir y archivar (ej en la heladera) Más importante aún, la imagen no es creada por nosotros sino por la composición química y física del suelo y por los millones de microorganismos que lo habitan. Los patrones y colores emergen directamente del sistema vivo del suelo, nosotros solo podemos asistir en su manifestación y desarrollo.

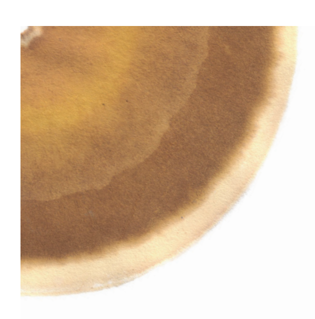
En el marco de la agricultura biodinámica, la cromatografía circular en papel es considerada no solo como un metodo de analizar la composición del suelo, sino también es interpretada en términos energéticos del suelo y su habilidad para dar soporte a la vida vegetal. En las siguientes páginas compartiremos algunos aprendizajes de nuestros experimentos pero no profundizaremos en el arte de “leer” un croma de suelo. Si quieres aprender más acerca de este tema puedes consultar las muchas publicaciones científicas existentes (ver “lecturas complementarias”) y/o contactar con su asociación biodinámica local.

Gente con experiencia ha estandarizado la lectura de los cromas separándolo en 3-5 anillos concéntricos (zonas) y observando otras características radiales tales como picos y canales. La presencia y los colores de las zonas y su relación con los patrones radiales les ha permitido distinguir y caracterizar propiedades tales como: la madurez del compost (Brintos, 2010), la presencia de prácticas industriales (ej uso de agroquímicos) y la efectividad de la utilización de compost (Restrepo & Pinheiro, 2011).

Es evidente que para una mejor interpretación de un croma debemos conjugar una cierta experiencia con el método con un entendimiento básico de la química y la física involucradas en dicho proceso, pero lo más importante es apelar a nuestra experiencia y conocimiento de las muestras, su aroma, textura e historia: de donde proviene? que es lo que crece allí? que tipo de tratamiento ha recibido a lo largo de los años?

Algunos ejemplos
Arena vs. suelo

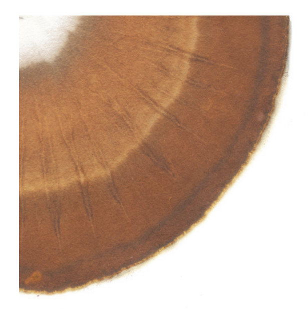
La evaluación de la calidad de los suelos es un problema complejo y la cromatografía circular puede ayudar a entender ciertos aspectos pero, como no somos expertos en esta técnica, no garantizamos que las siguientes interpretaciones sean correctas. Recomendamos la combinación de diferentes métodos, incluyendo acercamientos visuales y táctiles (ej. tal ocmo describe Graham Shepherd) y enfoques microbiológicos (ver también nuestra “Breve guía a la microscopía de suelos”)



100% arena



75% arena /
25% tierra de jardín



50% arena /
50% tierra de jardín

Las 3 imágenes del costado izquierdo muestran como la cromatografía reacciona a diferentes relaciones de arena y suelo de jardín. Pare el experimento utilizamos arena extraída de un sitio de construcción y suelo oscuro y rico de un cantero cubierto de mulch. El resultado es reproducible y consistente con nuestra experiencia previa respecto al color y la formación de zonas en suelos con diferentes cantidades de humus.

La cromatografía es muy sensible: con 50% de suelo de jardín (2.5g en 50ml NaOH) el cromatograma se saturó completamente. Un ulterior incremento en la concentración no produo ningún cambio de color, zonificación o patrones radiales (no se presentan las imagenes). Las muestras con arena pura fueron pálidas, presentaron un gradiente en vez de zonas y un borde difuso. De acuerdo a la literatura, esto se puede atribuir a la poca cantidad de compuestos orgánicos y baja actividad microbiana. Pequeños aumentos en el suelo de jardín mostraron un clara separación de zonas, un borde definido sin picos y fuertes patrones radiales (“canales”) que penetran al interior de las zonas. Excepto por la intensidad del color, las mayores diferencias entre 25% y 50% de suelo de jardín en la muestra son: 1) el delgado y luminoso anilllo en el borde exterior del cromatograma, solo visible para concentraciones menores; 2) el número, forma y tamaño de los canales, que fueron menores pero más amplios y llegando a la zona central, solo para las concentraciones más altas.

Concluimos de estos experimentos, que la dilución óptima de cada muestra debe ser determinada de manera individual para una mejor cromatografía. De otra manera, diferencias importantes se pueden perder debido a la saturación y otros efectos en la formación de patrones dependientes de la concentración.

Algunos ejemplos
Suelos agrícolas



Suelo no cultivado
(junto a finca de uva)



Finca de uva convencional



Regenetative grape farm
(3 years after transition)

Las 3 imágenes del costado presentan los cromatogramas de muestras tomadas en predios colindantes en la región vitícola de Mendoza, Argentína. La primera representa un suelo no cultivado, la segunda proviene de un espaldero convencional que utiliza fertilizantes químicos y pesticidas, la tercera es de una finca agroecológica en su tercer año luego de la transición.

El cromatograma de la muestra de suelo no cultivado presenta una zona central clara, anillos concéntricos bien definidos y un borde exterior levemente difuso. La muestra de la finca convencional presenta también una clara separación de las zonas, un borde exterior aún mas difuso pero un color más oscuro de la zona central. El cromatograma de la finca agroecológica es bastante diferente de los otros dos ya que los bordes de sus zonas son borrosos y presenta un borde exterior definido con un anillo oscuro. Ninguno de los cromatogramas presenta patrones radiales.

Las mayores diferencias entre los 3 cromas son:
1) el color; 2) la separación de las zonas;
1) Los marrones oscuros están asociados con el contenido de humus. El suelo de ambas fincas presenta un mayor contenido de materia orgánica que el suelo no cultivado pero su distribución es diferente.
2) No pudimos encontrar una explicación concluyente para los bordes borrosos de las zonas en la muestra de la finca agroecológica. Se podría especular que una cadena trófica del suelo mas compleja crea una mayor diversidad de compuestos orgánicos e inorgánicos, lo que podría producir una apariencia mas difusa de los bordes.
3) Un borde exterior definido es, en general, considerado como signo de mayor fertilidad. Está asociado a una mayor actividad microbiana y la presencia de partículas orgánicas más pequeñas.

Lecturas complementarias

Pfeiffer, E.E. (1960) "**Qualitative chromatographic method for the determination of biological factors**" Biodynamics 50, 2-15.

Hassild-Piezunka (2003) **Eignung des Chroma-Boden-Tests zur Bestimmung von Kompostqualität und Rottegrad**. Ph.D. Dissertation,

Carl-von-Ossietzky University Oldenburg William F Brinton "**Assessing Compost & Humus Condition by Circular Chromatography**" (2010) Journal of the woods end research Lab Vol 1:1

Restrepo Rivera, J. R; Pinheiro, S. (2011) "**Cromatografía - Imágenes de vida y destrucción del suelo**" Juquira Candiru Satyagraha

Maria Olga Kokornaczyk, Fabio Primavera, Roberto Luneia, Stephan Baumgartner & Lucietta Betti. (2016) "**Analysis of soils by means of Pfeiffer's circular chromatography test and comparison to chemical analysis results**" Biological Agriculture & Horticulture.

Ford, B., Cook, B., Tunbridge, D., and Tilbrook, P. (2019) "**Using paper chromatography for assessing soil health in southwestern Australia**" Centre of Excellence in Natural Resource Management, University of Western Australia.

Benjamin M. Ford, Barbara A. Stewart, David J. Tunbridge, Pip Tilbrook, (2021) "**Paper chromatography: An inconsistent tool for assessing soil health**" Geoderma, Volume 383.

Agradecimientos

Este fanzine ha sido producido en el marco de la serie de projectos "UROS - Ubiquitous Rural Open Science Hardware" (1), una colaboración de la red global Hackteria y mikroBIOMIK Society (2), Humus Sapiens, Gathering for open Science Hardware (3) y la cooperativa Ayllú (4). Zavod Rizoma (5) gentilmente ofreció su residencia durante la "Semana del Suelo en Maribor" durante mayo del 2022.

El proyecto UROS ha sido financiado como parte de la plataforma KonS = Plataform for Contemporary Investigative Arts (6), un proyecto elegido en convocatoria pública para la selección de operaciones de "Network of Investigative Art and Culture Centres". La iniciativa es co-financiada por la República de Eslovenia y el Fondo para el desarrollo regional de la Union Europea







HUMUS SAPIENS
OPEN SOIL RESEARCH



REPUBLIC OF SLOVENIA
MINISTRY OF CULTURE



Enlace

(1) hackteria.org/wiki/UROS
(2) mikrobiomik.org/humussapiens
(3) openhardware.science
(4) instagram.com/ayllucoope
(5) zavodrizoma.si
(6) kons-platforma.org

Texto e imagenes

Julian Chollet,
Fernando "Nano" Castro

Diseño e ilustraciones

Akvilė Paukštytė

Traducción al español

Fernando "Nano" Castro

Editor de diseño

Nopel Basuki



Producido 12/2022



